

DRVO ŽIVOTA

Kopanje po genomskom "smeću"

(Uloga nekodirajućeg dijela genoma)

M. Pavlek¹, Ž. Pezer², E. Šatović¹



Institut "Ruđer Bošković", Zavod za molekularnu biologiju, Laboratorij za strukturu i funkciju heterokromatina¹ & Laboratorij za evolucijsku genetiku²

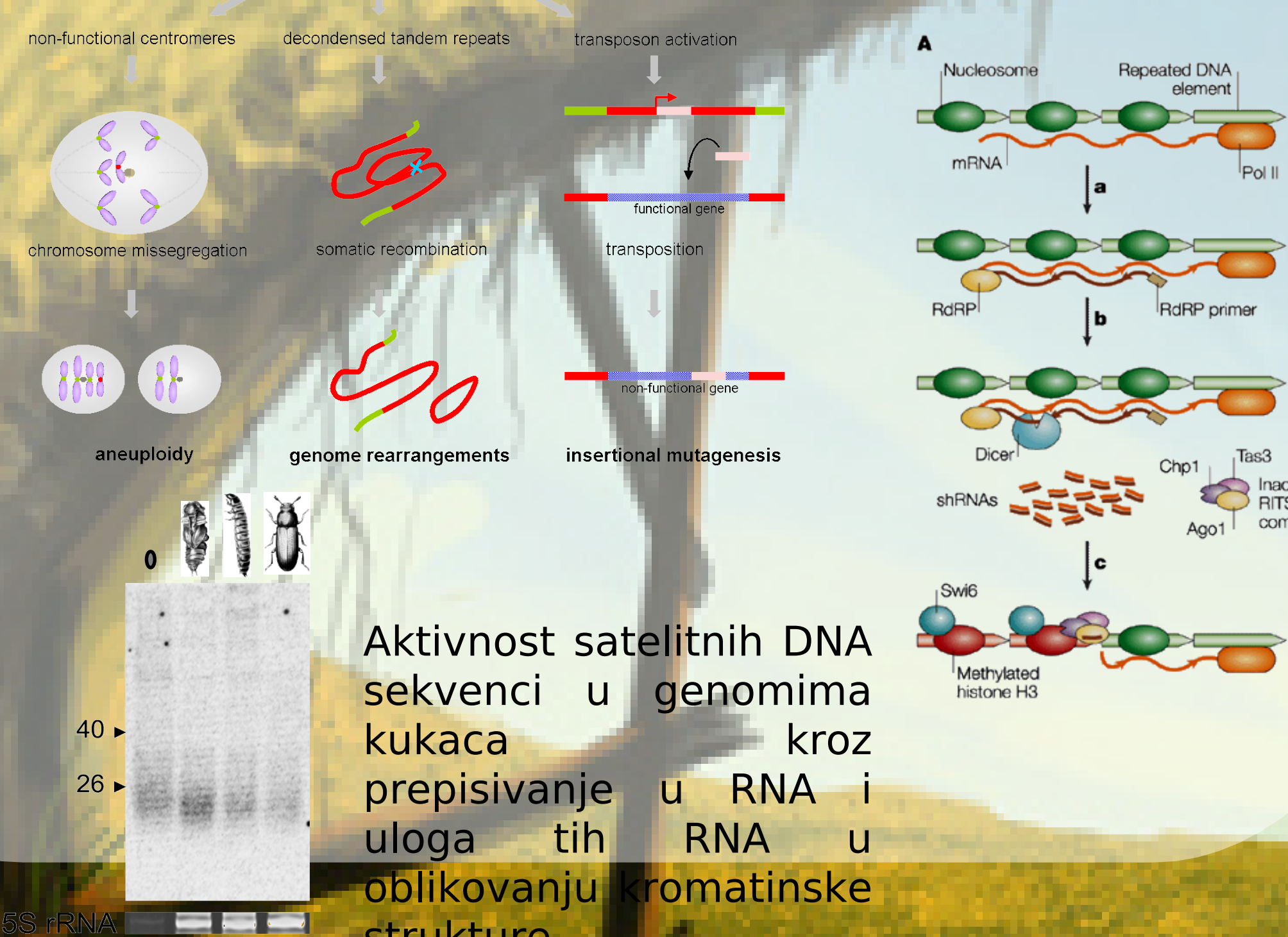
GENOMSKO "SMEĆE" I SATELITNA DNA?

Živimo u eri sekvenciranja genoma, genomi mnogih organizama, pa tako i ljudskog, već su "pročitani", dešifrirani. Iznenadujuće otkriće, proizašlo iz analize raznih «pročitanih» genoma, bilo je da geni čine samo maleni dio, tek oko 2%. Ta sićušna frakcija genoma čini ono na čemu se temelji većina znanja o strukturi, funkciji i evoluciji genoma. Još prije ere sekvenciranja genoma znalo se da u njemu postoje dijelovi koji nisu geni, ali kako je njihova funkcija bila potpuno nejasna znanstvenici su ih nazvali „junk DNA“. Ovaj dio genoma, danas nazvan nekodirajuća DNA, sadržava vrlo raznolike slijedove DNA koje su vrlo često sklone velikom broju ponavljanja i dinamičnoj evoluciji. Ovaj dio genoma se sve intenzivnije istražuje, pa je dokazana njegova važnost u mnogim procesima presudnima za pravilno funkcioniranje stanice i organizma, povezanost s nekim bolestima te utjecaj na evoluciju genoma.

Naša dva laboratorija koncentrirana su na istraživanja jedne vrste nekodirajućih sekvenci, satelitne DNA, i to s više različitih aspekata. Jedna grupa je koncentrirana na istraživanje porijekla, strukture i evolucije ovih sekvenci u genomima raznih modelnih organizama (kukci, oblići i školjkaši), dok druga istražuje njihov transkripcijski potencijal i utjecaj na oblikovanje kromatinske strukture.

ULOGA?

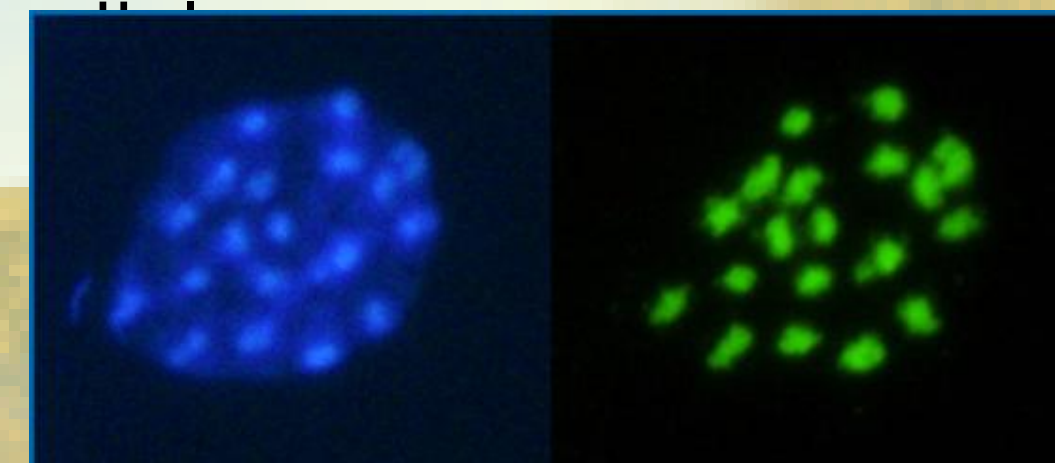
- ✗ pravilna funkcija centromera i sparivanje kromosoma pri diobi
- ✗ očuvanje kromosomskih krajeva - telomera
- ✗ sudjeluju u održavanju pravilne strukture kromatina (prevencija somatske rekombinacije, aktivacije transpozona, insercijske mutageneze...)



Aktivnost satelitnih DNA sekvenci u genomima kukaca kroz prepisivanje u RNA i uloga tih RNA u oblikovanju kromatinske strukture...

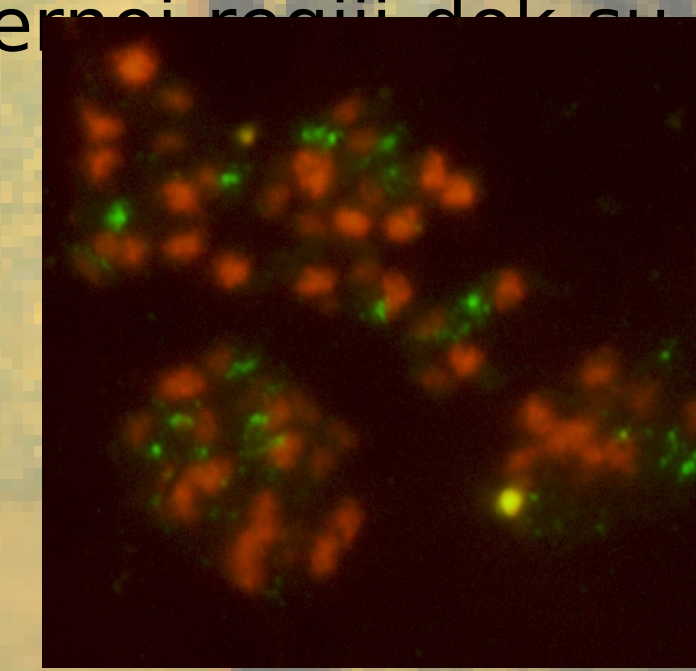
LOKALIZACIJA satDNA

Tribolium castaneum je prvi kornjaš čiji je genom sekvenciran, međutim veliki dio genoma koji uključuje nekodirajuće sekvence ostao je neistražen. Naši rezultati koji se zasnivaju na in silico i eksperimentalnim analizama otkrivaju veliki udio vrlo različitih satelitnih DNA u genomu kukca *Tribolium castaneum* od kojih su neke lokalizirane u centromernoj regiji dok su druge raspršene po

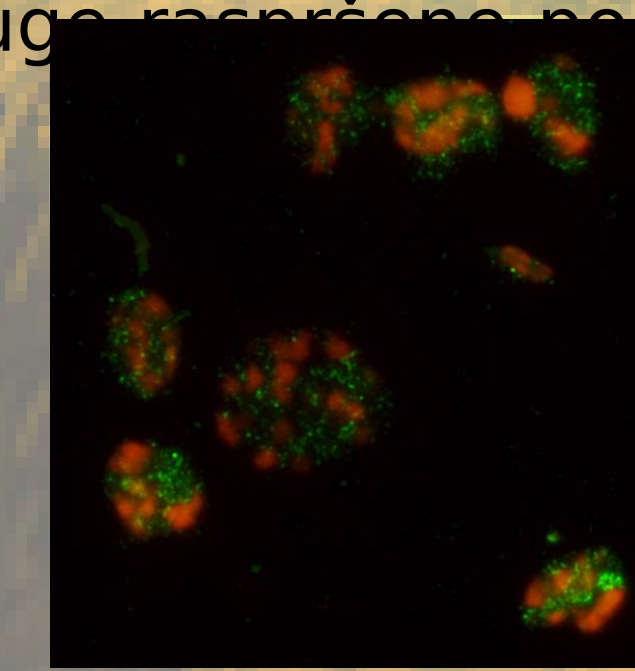


Centromere obojene DAPI-jem

C1



C1 satDNA (crveno) i C3 (zeleno)



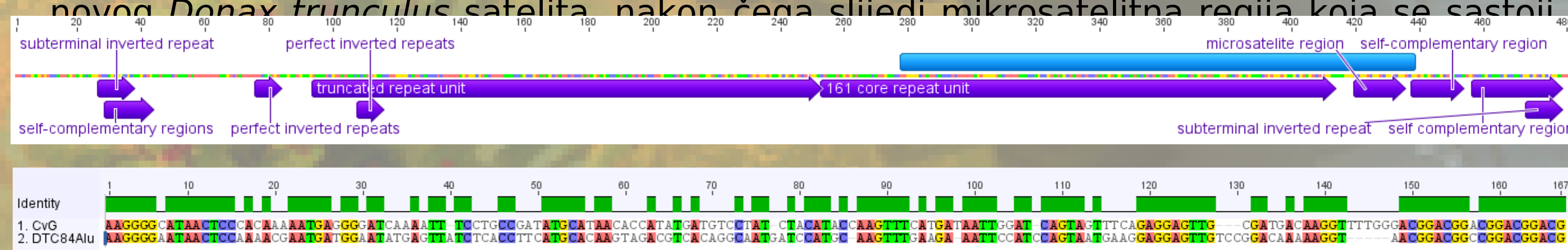
C1 satDNA (crveno) i C2 (zeleno)

ODAKLE DOLAZE?

Genom školjkaša *Donax trunculus* sadrži veliki broj nisko zastupljenih (do 2%), sekvenci satelitnih DNA. Od sedam prethodno karakteriziranih satelitnih porodica šest ih je uobičajenih AT-bogatih (DTE, DTHS1, DTHS2, DTHS3, DTHS4, DTF1, BIV160), i jedna koja se razlikuje po visokom GC sadržaju (DTF2). Nedavno smo kod tog školjkaša otkrili postojanje još jednog novog satelita.

Samo porijeklo satelitnih sekvenci nije točno utvrđeno, no smatra se da bi njihov izvor mogli biti mobilni genetički elementi koji takve sekvence rasprostranjuju po genomu, nakon čega slijedi njihovo umnažanje putem različitih mehanizama.

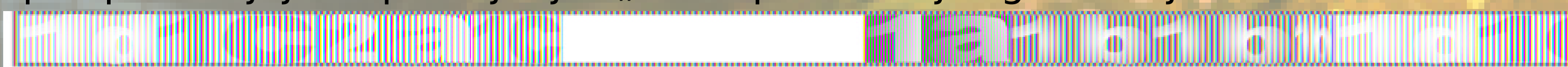
U prilog takvoj teoriji išla bi sličnost koju smo utvrdili između novootkrivenog satelita i CvG mobilnog elementa pronađenog kod školjke *Crassostrea virginica*. CvG pripada Pearl porodici MITE elemenata (Miniature Inverted-repeat Transposable Elements). Mobilni element sadrži centralna ponavlja slične dužine kao i monomerne jedinice novog *Donax trunculus* satelita, nakon čega slijedi mikrosatelitna regija koja se sastoji



Pretragom baza repetitivnih elemenata utvrđeno je da još 3 satelita tog školjkaša pokazuju sličnost s različitim mobilnim elementima, DTHS1 s jednim non-LTR retrotranspozonom, DTHS2 s LTR retrotranspozonom i DTE s MITE elementom. Takve sličnosti mobilnih elemenata i satelitnih DNA podržavaju teoriju o središnjoj ulozi transponirajućih elemenata u formiranju i širenju satelitnih sekvenci, te njihov utjecaj na kompletnu mrežu repetitivnih elemenata u genomu.

ORGANIZACIJA satDNA

Oblici korijenovih kvržica roda *Meloidogyne* su biljni paraziti od iznimne agronomske važnosti. Genom vrste *Meloidogyne incognita* nedavno je sekvenciran. Naši rezultati ukazuju na postojanje vrlo kompleksne organizacije višeg reda koja sadrži različite satDNA na istom nizu, pretpostavljajući postojanje „hot spots“ koje generiraju ove sekvence u



Primjer organizacije višeg reda satelitne DNA kod oblića

Zahvale mentorima i voditeljima projekata:

Laboratorij za strukturu i funkciju heterokromatina¹

dr. sc. Nevenka Meštrović Radan (mentor) i dr. sc. Miroslav Plohl (mentor i voditelj projekta)

Laboratorij za evolucijsku genetiku²

dr. sc. Đurđica Ugarković (mentor i voditelj projekta)